

Das Vorkommen von Hefen bei Bienen - Hummeln - Wespen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

Vorgelegt von

Josef Mooser

aus Neuschwetzingen

Februar 1956

1 9 5 7

Buchdruckerei F. Mitzlaff KG., Rudolstadt i. Thür.

**Berichterstatter: 1. Prof. Dr. M. Rolle
2. Prof. Dr. L. Brauner
Tag der mündl. Prüfung: 16. Mai 1956**

Abdruck aus

**Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten
und Hygiene, Bd. 111, 1958**

Zweite Abteilung

Herausgegeben von

Professor Dr. Richard Koch und Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

VEB GUSTAV FISCHER VERLAG · JENA

Printed in Germany

Veröffentlicht unter der Lizenz-Nr. ZLN 5087

Meinem unvergeßlichen Freund

Heinz Combé†

in steter Erinnerung



Die Symbioseforschungen haben für viele Insekten ein gesetzmäßiges Zusammenleben mit Mikroorganismen ergeben. Es handelt sich bei diesen außer um Bakterien auch um Hefen, die in bestimmten Organen des Wirtskörpers, den sog. Mycetomen, vorkommen und die man auf Grund ihrer Funktion als Symbionten-Hefen bezeichnet. Diese speziellen Symbionten werden bereits vom Muttertier auf die Eier übertragen. Sobald die den Eiern anhaftenden Hefen entfernt werden, unterbleibt die Entwicklung der Larven. Man bringt die Erscheinung mit der einseitigen Ernährung dieser Insekten in Zusammenhang. Die Aufgabe, die diese Symbionten im Wirtsorganismus erfüllen, kann sehr vielseitig sein. Sie ergänzen das Fermentsystem oder treten als Vitaminspender in den Dienst des betreffenden Insekts.

Wie liegen die Dinge bei den Nektar-saugenden Insekten, den Bienen, Hummeln und Wespen? Die Nahrung dieser Insekten kann man nicht als einseitig bezeichnen. Jedoch sind in Nektarsekreten und anderen zuckerhaltigen Substraten Hefen enthalten, die mit der Nahrung in das Körperinnere dieser Tiere aufgenommen werden. Über symbiontische, im Darmtraktus von Bienen, Hummeln und Wespen vorkommende Hefen ist bisher nichts bekannt, und es kann die Frage, ob diese Hefen im Körper der genannten Tiere eine biologisch wichtige Funktion auszuüben vermögen, aus den bisher vorliegenden Arbeiten nicht beantwortet werden.

Aus diesen Gründen galt es deshalb zunächst festzustellen, welche Hefearten in den einzelnen Abschnitten des Verdauungskanal dieser Insekten, mit besonderer Berücksichtigung bei Bienen, zu den verschiedenen Jahreszeiten vorkommen, und ob diese Hefen in Beziehung zu den Futterstellen (Blüten und Früchten) stehen. Fernerhin wurde die Frage zu klären versucht, inwieweit ermittelte Hefen im Körper der Bienen vermehrungsfähig sein können, oder ob sie nur als Passanten ohne jegliche Bedeutung zu betrachten sind.

A. Material und Methodik.

Die zu untersuchenden Insekten (Bienen, Hummeln und Wespen) wurden an den ihnen eigenen Standorten abgefangen. Die Mehrzahl der 280 Bienen stammte aus Stöcken des Zoologischen Institutes der Universität München. Ein geringerer Teil

wurde, wie auch alle Hummeln, von Blüten weggeholt. Da sich Bienen häufig an Traubenständen einstellen, gelangten auch solche mit den hauptsächlich dort anzutreffenden Wespen zur Untersuchung. In Kästchen wurden die Insekten gesammelt und im Institut mit Äther betäubt.

Zur Feststellung der Mikroflora des Darmlumens galt es in erster Linie, die den Insekten auf der Körperoberfläche anhaftenden Keime auszuschließen. Das Verfahren besteht nach der WHITESCHEN Methode darin, daß die toten Tiere vier- bis fünfmal durch die Flamme gezogen werden. Um eine Beeinträchtigung der weniger hitzebeständigen Mikroben zu verhindern, wurde die Desinfektion der Körperoberfläche auch mit einer 2 prom. Sublimatlösung durchgeführt. In der Anwendung beider Methoden ergab sich kein auffallender Unterschied. Hierauf erfolgte die Einbettung des Insekts in flüssiges Wachs. Nach Entfernung der hintersten Bauchschuppen konnte der Darm als Ganzes mittels steriler Pinzette herausgezogen werden. Er wurde auf einen sterilen Objektträger gelegt und die durch den Dünndarm getrennten und gut zu unterscheiden den Darmabschnitte des Mittel- und Enddarmes mit steriler Schere abgetrennt. Sie wurden mit steriler Öse auf das Nährsubstrat übertragen und der Inhalt ausgestrichen. Es zeigte sich, daß die vielfach ausgeprägte Bakterienflora die Entwicklung der Hefen unterdrückte. Deshalb erwies sich die Anwendung flüssiger Nährböden (Bierwürze oder 10 proz. Honiglösung) mit einem Zusatz von 500 γ /cem Aureomycin als geeigneter. Nach 2—3-tägiger Bebrütung bei 25° C wurden die angereicherten Kulturen mikroskopisch auf Hefen untersucht und die ermittelten Hefen der weiteren Reinzüchtung unterzogen.

Die vergleichend untersuchten Nektarblüten wurden in sterilen Reagenzröhrchen gesammelt und entweder der mit einer sterilen Kapillare entnommene Nektar direkt oder in den zerkleinerten Blütenteilen auf die Nährböden verimpft.

Die auf Hefen geprüften Trauben (Fruchtfleisch und Schale) waren normale Handelsware. Das Verfahren zur Bestimmung des Hefegehaltes im Fruchtfleisch bestand darin, daß mit ausgeglühtem Skalpell die Trauben durchschnitten und Teile des darunterliegenden Fruchtfleisches mit steriler Öse auf den Nährboden ausgestrichen wurden. Um die der Traubenschale anhaftenden Mikroorganismen zu erhalten, wurden mit steriler Öse Teilflächen der Schale abgeschabt und die so gewonnenen Keime auf feste Nährböden überimpft.

Die genaue Bestimmung der isolierten Hefestämme erfolgte nach dem von LODDER und KREGER-VAN-RIJ (1952) hierfür maßgeblichen Bestimmungsschlüssel unter Berücksichtigung der normierten Methoden.

B. Untersuchungsergebnisse.

I. Hefebefunde bei Bienen.

Bei den Untersuchungen der Darmkrankheiten der Honigbiene wurde von den verschiedenen Forschern, wie HUNKELER, MAASSEN und BORCHERT, außer auf eine ausgeprägte Bakterienflora auch auf das Vorkommen von Hefen hingewiesen. Man brachte diese pflanzlichen Mikroorganismen mit dem Blütenbesuch und der Nahrungsaufnahme dieser Insekten in Zusammenhang.

Meine Untersuchungen stellen eine Fortsetzung und Ergänzung der bereits gefundenen Ergebnisse von MAASSEN, HAUTMANN und GRÜSS dar. Diese Autoren ermittelten die Hefeflora des Gesamtdarmes, z. T. auch nur des Enddarmes bei Bienen. Um gegebenenfalls eine jahreszeitliche Verschiedenheit der Hefeflora im Darm dieser Insekten festzustellen, wurden in den vorliegenden, zweijährigen Prüfungen die Schlupf-, Frühjahrs-, Sommer- und Winterbienen gesondert beurteilt. Wegen der teils unterschiedlichen Bakterienflora im Mittel- und Enddarm erschien es angebracht, bei Bienen den Hefegehalt in diesen Abschnitten getrennt zu erfassen. Der Dünndarm, der diese beiden Abschnitte verbindet, wurde nicht auf Hefen untersucht, da die mikroskopischen Befunde nur geringe Nahrungsmengen erkennen ließen. Nach HUNKELER übt er auch keine Verdauungstätigkeit aus.

1. Schlupfbienen.

25 frisch geschlüpfte Bienen eines Versuchsstockes aus dem Zoologischen Institut wurden auf Hefen geprüft. Die auf Bierwürzeagar ausgestrichenen Darminhalte erbrachten kein Hefewachstum.

2. Frühjahrsbienen 1954/55 (März — Juni).

Die Flugbienen dieser Jahreszeit stammten ebenfalls aus dem Zoologischen Institut, jedoch von verschiedenen Stöcken. 64 Bienen gelangten 1954 und 66 Bienen 1955 zur Untersuchung. Die Zahl der hefeführenden Bienen ergab in beiden Jahren 33% und 44%. Wie aus Tab. 1 zu ersehen ist, ließen sich die Hefen der Gattung *Candida* am häufigsten isolieren, wobei *C. guilliermondii* an erster Stelle zu nennen ist, gefolgt von *C. pulcherrima* und *C. krusei*. Von den *Torulopsis*-Arten konnte *T. jamata* neben *T. stellata* annähernd in gleichen Mengen herausgezüchtet werden, während die übrigen Arten dieser Gattung wenig in Erscheinung traten. Die gleiche Aussage trifft auch für die Gattungen *Saccharomyces* und *Klöckera* mit ihren Arten zu. Diese Feststellung deutet auf eine häufigere Verbreitung der asporogenen Hefen gegenüber den sporogenen hin. Vergleichende Untersuchungen der einzelnen Darmabschnitte ergaben für den Mitteldarm öfter Hefen, und nur in wenigen Bienen waren in Mittel- und Enddarm die gleichen Hefearten vertreten.

3. Sommerbienen 1954/55 (Juli — Oktober).

Während die obengenannten Bienenproben nur Stöcken des Zoologischen Institutes entnommen wurden, stammten die Sommerbienen von verschiedenen Standorten. Sie wurden von Wiesenblüten des Englischen Gartens, von Stöcken aus dem Zool. Institut und an Traubenständen abgefangen. Insgesamt wurden 150 Flugbienen dieser Jahreszeit auf ihren Hefegehalt geprüft und in 92 Bienen = 61% Hefen festgestellt. Wenn auch die Sommerbienen öfter Hefen führten, so konnte allgemein keine Zunahme des Hefehaltes gegenüber den Frühjahrsbienen festgestellt werden. Eine Ausnahme hiervon machten die von Traubenständen weggeholtten Bienen, die in allen Fällen Hefen der Gattung *Candida* und *Klöckera* enthielten (vgl. Tab. 1). Zu nennen sind hier in erster Linie die beiden Arten der Gattung *Klöckera* (*Kl. lafarrii* und *Kl. apiculata*); daneben *C. guilliermondii* und *C. pulcherrima*. Für die allgemein als Nektarhefe geltende *Candida reukaufii* ist in diesem Zusammenhang erwähnenswert, daß sie nur aus einer Biene isoliert werden konnte, während HAUTMANN sie als „massenhaft“ aus Bienen herauszüchtbar beschreibt.

4. Winterbienen 1955 (Dezember).

Die eingewinterten Bienen leben im Gegensatz zu den Flugbienen des Frühjahrs und Sommers bis zu einem halben Jahr und stellen den Anschluß an die Frühjahrsbrut her. Sie überdauern den Winter im Stock und ernähren sich von eingesammeltem Honig oder dargereichtem Zuckerwasser, dem körpereigene Sekrete der Pharynxdrüse beigemischt werden. Die aus dem Nahrungsabbau sich ansammelnden Exkremente verbleiben in der Kotblase und werden erst beim Reinigungsflug im zeitigen Frühjahr abgesetzt. Wenn auch diese Bienen an schönen Tagen des Spätherbstes noch Orientierungs- und Reinigungsflüge erledigen, so haben sie keine oder nur noch geringe Möglichkeit, hefehaltige Nahrung in der Natur zu finden.

Es wurden zehn Bienen nach 2½ monatiger Einwinterung auf ihren Hefegehalt in den einzelnen Darmabschnitten untersucht und Hefen in verschiedener Keimzahl bei den einzelnen Bienen festgestellt. Die Überimpfung des Inhalts der Darmabschnitte auf feste Nährböden erbrachte für die der Mitteldärme 1 bis 60, für die der Enddärme 1 bis 140 Kolonien. Von diesen zehn geprüften Bienen enthielten zwei nur im Mitteldarm und zwei nur im Enddarm Hefen, während die restlichen sechs Bienen in beiden Verdauungsabschnitten Hefen aufwiesen. Neben diesem Befund auf Nährböden zeigte der Darminhalt auch bei der mikroskopischen Untersuchung sprossende Hefezellen. Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, erwiesen sich alle Hefen mit Ausnahme der pigmentbildenden *Rhodotorula mucilaginoso* mit *Torulopsis famata* identisch.

Tab. 1. Hefebefunde bei Frühjahrs-, Sommer- und Winterbienen.

	Frühjahrsbienen 1954/55			Sommerbienen 1954/55			Winterbienen 1955		
Untersuchte Bienen:	130			150			10		
Bienen mit Hefen:	50			92			10		
Darmabschnitte:	M	E	M/E	M	E	M/E	M	E	M/E
<i>C. guilliermondii</i> . . .	8	3	2	7	—	4	—	—	—
<i>C. krusei</i>	3	2	—	5	6	7	—	—	—
<i>C. pulcherrima</i>	6	2	2	24	5	2	—	—	—
<i>C. reukaufii</i>	—	—	—	1	—	—	—	—	—
<i>C. utilis</i>	—	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>T. famata</i>	6	2	2	1	4	—	2	2	6
<i>T. candida</i>	1	1	—	1	3	—	—	—	—
<i>T. stellata</i>	5	—	1	2	2	—	—	—	—
<i>T. bacillaris</i>	—	—	—	—	—	1	—	—	—
<i>T. dattila</i>	2	1	1	—	—	—	—	—	—
<i>T. sphaerica</i>	—	—	—	2	1	—	—	—	—
<i>Kl. apiculata</i>	1	—	1	10	1	—	—	—	—
<i>Kl. lafarii</i>	—	—	—	14	3	5	—	—	—
<i>Rh. mucilaginoso</i> . . .	—	—	—	1	1	—	—	—	—
<i>Rh. glutinis</i>	—	—	—	1	1	—	—	1	—
<i>S. rouxii</i>	2	3	—	5	1	—	—	—	—
<i>S. rouxii</i> var. <i>pol.</i> . .	1	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. cerevisiae</i> var. <i>ellips.</i>	2	1	—	3	1	—	—	—	—
<i>H. anomala</i>	1	1	1	3	1	—	—	—	—

Erklärung der Abkürzungen: M = Mitteldarm, E = Enddarm, M/E = Hefen sowohl im Mittel- als auch im Enddarm. *C.* = *Candida*, *T.* = *Torulopsis*, *Kl.* = *Klöckera*, *Rh.* = *Rhodotorula*, *S.* = *Saccharomyces*, *H.* = *Hansenula*.

Betrachten wir die gewonnenen Ergebnisse der Bienenuntersuchungen hinsichtlich ihrer Hefeflora zu den verschiedenen Jahreszeiten und Lebensabschnitten, so ergibt sich für die einzelnen Gruppen von Bienen ein ziemlich einheitliches Bild. Während die frisch geschlüpften Bienen noch keine Hefen im Darm enthalten, nimmt die Hefeflora mit der Tätigkeit als Flugbiene

zu. Der Anteil der hefeführenden Bienen im Frühjahr (38%) ist geringer als der bei den Flugbienen des Sommers (61%). Ein Vergleich der aus diesen beiden Bienengruppen isolierten Hefen läßt bis auf wenige Ausnahmen die gleichen Hefearten wieder erkennen. Es ist jedoch zu betonen, daß die Hefearten der Gattung *Klöckera* (*Kl. lafarii*, *Kl. apiculata*) und *Candida* (*C. pulcherrima*) bei den Sommerbienen besonders häufig wiederkehren, während die Arten der übrigen Gattungen jahreszeitliche Unterschiede im Auftreten nicht erkennen lassen. In den Proben der Sommerbienen lagen auch mehrere Hefearten gleichzeitig vor, eine Regelmäßigkeit konnte aber dabei nicht festgestellt werden. Bei der Prüfung der einzelnen Darmabschnitte der Flugbienen wies der Mitteldarm des Verdauungskanals unverkennbar öfter Sproßpilze auf, nämlich in 63 Fällen, während nur in 23 im Enddarm Hefen vorhanden waren. In 56 von 142 Proben lagen diese sowohl im Mittel- als auch im Enddarm vor. Allgemein gilt die Feststellung, daß die herausgezüchteten Hefen im Darm der Bienen niemals massenhaft vorlagen. Die mikroskopischen Untersuchungen des Darminhaltes ergaben meist nicht sprossende Hefezellen. Dies läßt darauf schließen, daß der Bienendarm mit seiner reichen Bakterienflora für Hefen möglicherweise ungünstige Entwicklungsbedingungen schafft. Das verhältnismäßig geringe Vorkommen von Hefen im Bienendarm bestätigen die Befunde, wenn von 142 hefeführenden Bienen 91 davon jeweils nur eine der in Tab. 1 aufgeführten Hefearten enthielten. Bei 42 Bienen waren zwei Arten und bei 9 Bienen drei Arten gemischt vorhanden. Der Feststellung einer verschiedenartigen Hefeflora und geringer Keimzahlen bei Flugbienen stehen die Ergebnisse von HAUTMANN gegenüber, der — wie schon oben erwähnt — aus Bienen und Hummeln und den von ihnen besuchten Substraten *C. reukaufii* „massenhaft“ herauszüchtete. Da dieser Hefeart auch bei REUKAUF's Untersuchungen größere Bedeutung zukommt, während sie in den vorliegenden Befunden nur eine untergeordnete Rolle einnimmt, liegt die Annahme nahe, daß die Häufigkeit der Hefezellen sowie die der Arten im Bienendarm vom Hefereichtum der aufgenommenen Nahrung abhängt. Wesentlichen Anteil haben hierbei die Witterungsverhältnisse, die sowohl die Entwicklung der Hefezellen im Nektar, als auch die Verbreitung dieser Hefen durch Insekten bei günstigem Flugwetter fördern können.

Auch für die Winterbienen zeichnet sich ein einheitliches Bild ab, wenn es auch im auffallenden Gegensatz zu den Flugbienen steht. Enthielten die Sommerbienen die verschiedensten Hefearten, so fehlt diese Reichhaltigkeit den eingewinterten Bienen. Diese Verschiedenheit kann dadurch erklärt werden, daß die Flugbienen bei ihrer Sammeltätigkeit mit den Hefen in der Natur in Berührung kommen, während diese Möglichkeit den Winterbienen fehlt. Der Nachweis von Hefen in allen Winterbienen ist deshalb um so überraschender. Es ist wahrscheinlich, daß diese Hefen aus dem an die Bienen verfütterten Zuckerwasser stammten. Der höhere Keimgehalt in ihren Darmabschnitten ist vermutlich mit einer Anreicherung der Hefen im Bienendarm zu erklären. Mit der Nahrung nehmen diese Tiere laufend Hefen auf, während sie normalerweise in der Winterruhe keinen Kot absetzen. Auch LUND hat bei seinen Untersuchungen der Sommer- und Winterbienen in der quantitativen und qualitativen Zusammensetzung der Hefeflora ein ähnliches Ergebnis gefunden.

II. Hefebefunde bei Wespen.

Wespen zählen nur zu den seltenen Besuchern der Nektarblüten. Sie holen sich ihr Futter vor allem aus den Säften reifer Früchte, denen ein besonderer Zuckerreichtum eigen ist. Werden diesen Früchten durch Insektenbisse (Wespen) kleine Wunden beigebracht, so können durch die Luft und durch Insekten Hefen dorthin gelangen. In dieser Erkenntnis hat schon HANSEN insbesondere in Wespen die hauptsächlichen Verbreiter von Hefen auf Früchte gesehen. Wie auch bei den Bienen und Hummeln werden diese Hefen mit den Säften in den Verdauungskanal der Wespen aufgenommen.

Abweichend zu den Bienenuntersuchungen wurden bei den Wespen und Hummeln sämtliche Darmabschnitte auf den Gehalt an Hefen geprüft. 36 von 40 (= 90%) an Traubenständen abgefangene Wespen enthielten in ihrem Darmlumen verschiedene Mengen Hefezellen. Die isolierten Hefen gehörten drei Gattungen mit vier Arten an:

Gattung	<i>Klöckera</i>		2 Arten,
„	<i>Candida</i>		1 Art,
„	<i>Torulopsis</i>		1 Art.

Am häufigsten und auch am zahlreichsten waren die Hefen der Gattung *Klöckera* (*Kl. lajarii* und *Kl. apiculata*) anzutreffen, die im Darmkanal dieser Insekten 16 mal allein vorlagen. *Candida pulcherrima* konnte nur einmal allein isoliert werden. In den übrigen Fällen kamen nebeneinander vor: fünfmal *Kl. lajarii*/*C. pulcherrima*, fünfmal *Kl. lajarii*/*T. stellata*, dreimal *Kl. apiculata*/*C. pulcherrima*, dreimal *Kl. lajarii*/*C. pulcherrima*/*T. stellata*, einmal *Kl. apiculata*/*Kl. lajarii*/*C. pulcherrima* und einmal *C. pulcherrima*/*T. stellata*. Da diese Hefearten auch auf Traubenschalen häufig zu finden sind, deutet dies auf einen bestehenden Zusammenhang zwischen den Hefen im Darm dieser Insekten und denen ihrer Nahrungsquellen hin (s. Tab. 2). Gegenüber den Bienen war bei den Wespen eine größere Anzahl von Keimen festzustellen, während sich die Zahl der auftretenden Arten bedeutend geringer erwies. In der Literatur liegen derartige Untersuchungen nur von LUND vor, der aus vier Wespen Hefen der Gattung *Torulopsis* isolierte.

III. Hefebefunde bei Hummeln.

Während sich Wespen vornehmlich von zuckerhaltigen Substanzen ernähren, dienen der Hummel ausschließlich Nektarsekrete als Nahrung. Da im Blütennektar gleichermaßen Hefen vorkommen, gelangen diese ebenfalls mit der Nahrung in das Darmlumen der Tiere. Mit dem Verhalten der Hefen im Hummeldarm befaßte sich HAUTMANN. Er kam zu der Überzeugung, daß z. B. die Nektarhefe *Candida reukaufii*, die er auch aus Hummeln und den Hummelblüten zu isolieren vermochte, durch Dauerzellbildung die physiologisch ungünstigen Bedingungen des Darmes überstehen könne. Im Frühjahr gelange diese Hefe durch die Hummel wieder in die Blüten. Auch LINDNER teilt diese Ansicht der Überwinterung der Hefe im Hummeldarm.

Um die Zusammenhänge und die Verbreitung der *C. reukaufii* im Untersuchungsgebiet zu klären, wurden 20 Hummeln auf ihren Hefegehalt geprüft. Von diesen erwiesen sich 16 = 80% als hefeführend, wie aus Tab. 2 zu ersehen ist. Die isolierten Hefen gehörten folgenden Gattungen an:

Gattung <i>Candida</i>	3 Arten,
„ <i>Torulopsis</i>	2 Arten,
„ <i>Klöckera</i>	1 Art.

Ähnlich den Bienenproben erwies sich der Keimgehalt bei den Hummeln als gering, desgleichen war auch vorwiegend nur eine Hefeart im Darm zu finden. 10 von 16 Hummeln zeigten je eine Hefeart (viermal *T. candida*, zweimal *T. famata*; *C. pulcherrima*, *C. guilliermondii*, *C. reukaufii*, *Kl. apiculata* je einmal), während sechs Hummeln zwei der aufgeführten Hefearten enthielten. Am häufigsten waren die Hefen der Gattung *Torulopsis*, gefolgt von *Candida* und *Klöckera* vertreten. *C. reukaufii* lag nur einmal vor.

Das von LUNDNER und HAUTMANN ermittelte häufige Vorkommen von *C. reukaufii* konnte damit nicht bestätigt werden. Hingegen ergab sich eine Übereinstimmung mit LUND's Ergebnis, der in sechs Hummelproben Hefen der Gattungen *Torulopsis*, *Candida*, *Hansenula* und *Klöckera* fand.

IV. Hefevorkommen in Blüten, Trauben und Honig.

1. Hefen in Blüten.

Bestimmte Blütenpflanzen scheiden während der Vegetationsperiode in hohem Maße Nektar ab, der von den verschiedensten Insekten als Ausgangsprodukt für den Honig mit Vorliebe eingesammelt wird. Dabei ist es unausbleiblich, daß die in der Natur vorkommenden Hefen durch den häufigen Insektenbesuch auf andere Blüten und zu den Früchten verschleppt werden. Dies bestätigen zahlreiche Untersuchungen, u. a. von HILKENBACH, ZINKERNAGEL, HAUTMANN und REUKAUF, bei denen sie in Hummel- und Bienenblüten häufig und in großer Zahl Hefen ermittelten. Einige Forscher beobachteten sogar vorwiegend eine ganz bestimmte Hefeflora in diesen Blüten. GRÜSS und REUKAUF führen das häufigere Vorkommen von *C. reukaufii* in Blüten darauf zurück, daß die kreuzförmigen Sproßverbände beim Saugakt an den Zungenrändern des Rüssels der Insekten haften bleiben und dadurch eine Weiterverfrachtung in die nächsten Blüten in hohem Maße gesichert ist. Daneben ist aber auch eine Übertragung der Hefen auf Blüten durch Wind und Regen nicht ausgeschlossen, jedoch geschieht nach HILKENBACH dies rein zufällig. Er fand auch die windbestäubten Blüten am wenigsten mit Sproßpilzen besiedelt.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden Blüten geprüft, die Insektenbesuch zeigten. Von 29 Blütenproben erwiesen sich nur 10 = 30,7% mit Hefen besiedelt, die folgenden Gattungen (s. Tab. 2) angehörten:

Gattung <i>Candida</i>	3 Arten,
„ <i>Torulopsis</i>	2 Arten,
„ <i>Klöckera</i>	1 Art.

Das Hefevorkommen in Blüten ergab für Monat Mai in zwei von fünf Proben *T. famata*, dagegen im Juni in sechs Blüten nur einmal *C. pulcherrima*. Von zehn im Juli untersuchten Nektarblüten führten nur zwei Blüten Hefen (*C. pulcherrima* und *T. gropengiesseri*), während sieben Blütenproben im August fünfmal Hefen enthielten (zweimal *C. pulcherrima*, *C. reukaufii*, *C. guilliermondii* und *Kl. apiculata* je einmal). Diese Befunde deuten auf eine geringe Verbreitung von Hefen in Blüten im Untersuchungsgebiet zu dieser Zeit hin. Die Ursache ist wohl in den ungünstigen Witterungsverhältnissen zu suchen, die einen häufigen Blütenbesuch der Insekten (schlechtes Honigjahr) verhinderten.

2. Hefen an und in Trauben.

Neben den Blüten, die durch ihren Nektar eine Anziehung auf Insekten ausüben, laden auch die Früchte wegen ihres bekömmlichen, zuckerhaltigen Saftes zum Insektenbesuch ein. Vor allem werden reife Trauben von Bienen und Wespen häufig aufgesucht. Um diese Zusammenhänge zu klären, befaßten sich schon REES (1870) und später HANSEN, sowie KLÖCKER mit der Hefeansiedlung auf Trauben und der Verbreitung durch Bienen und Wespen.

In den von mir hierzu vergleichend durchgeführten Untersuchungen wurde das Fruchtfleisch unbeschädigter Früchte und die Fruchtschale gesondert auf Hefekeime geprüft.

Im gesunden Fruchtfleisch konnten nach 3 und 10 Tagen Bebrütung keine Mikroorganismen festgestellt werden. Es ist auch kaum anzunehmen, daß im Innern intakter Früchte Hefen oder Bakterien vorlagen, die sich dem Nachweis entzogen hätten. Wiederholte mikroskopische Befunde ließen ebenfalls auf die Keimfreiheit des gesunden Fruchtfleisches schließen. Dagegen stellten sich bei beschädigten Früchten oder durch Abschaben der Schale mittels steriler Öse in 86% der untersuchten Proben Hefen ein. Von 30 Proben enthielten 26 neben Bakterien und Schimmelpilzen Hefen mit folgender Gattungszugehörigkeit:

Gattung <i>Klöckera</i>	2 Arten,
„ <i>Candida</i>	2 Arten,
„ <i>Torulopsis</i>	1 Art.

Am häufigsten fanden sich Hefen der Gattung *Klöckera* (*Kl. lafarri* zehnmal, *Kl. apiculata* neunmal). *C. pulcherrima* lag bei elf, *C. krusei* bei fünf und *T. stellata* bei sechs Trauben vor. In 13 dieser Proben kam je eine Hefeart vor, während elf je zwei Arten und zwei je drei Arten aufwiesen (s. auch Tab. 2). Die auf Traubenschalen isolierten Hefen gehörten ausnahmslos den asporogenen Hefen an. Sie waren mit den Hefen aus dem Darmtraktus der Wespen und zum Teil auch der Bienen größtenteils identisch. Auffallend ist, daß aus 30 Proben von Traubenschalen die Weinhefe, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, nicht gezüchtet werden konnte.

Das Vorkommen der asporogenen Hefen auf Früchten geht auch aus den Untersuchungen verschiedener Forscher hervor. So beobachtete REES sehr häufig die „Apiculatushefen“ der Gattung *Klöckera* auf Früchten. KLÖCKER fand diese in Bienen, und HANSEN sah in den Wespen die Hauptverbreiter der Hefen auf Früchte. MRAK und CLUNG wiesen ebenfalls bei der Untersuchung von Früchten mehrmals nicht sporenbildende Hefen nach, während sporenbildende sich hauptsächlich aus von Weintrauben gewonnenen Produkten züchten ließen. Aus den oben angeführten Untersuchungen ist ersichtlich, daß die Übertragung der Weinhefe in die Traubenprodukte in erster Linie in den Weinkellereien stattfindet.

3. Hefen in Honig.

Der Honig entsteht durch Umsetzung des gesammelten Nektars im Bienenstock. Da Hefen im Nektar vorkommen, ergab sich die Frage, ob diese pflanzlichen Mikroorganismen den Honigreifungsprozeß überstehen und lebensfähig bleiben. Die damit in Zusammenhang stehenden Vorgänge sind noch nicht genügend erforscht, und die Keimfreiheit des Honigs mit seiner bakteriziden Wirkung wird unterschiedlich beurteilt.

So betrachtet WHITE den normalen Bienenhonig als steril. Er geht dabei von der Tatsache aus, daß geschleudeter Honig, luftdicht verschlossen und gut gelagert, sich jahrelang hält. Auch HUNKELER ist der Ansicht, wenn Honig bakterizid wirken soll, muß er frei von keimfähigen Mikroorganismen sein. Er stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß Honig in niedrigen Konzentrationen von 1—5% auf Bakterien wachstumsfördernd wirkt, während ein Gehalt von 40—50% im Nährsubstrat das Wachstum hemmt. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch MEIER und FREITAG, die bei der Untersuchung von Sacchariden und Bienenhonig in konzentrierten Lösungen eine antibiotische Wirkung auf Bakterien nachwiesen. Als Ursache dieser Wirkung werden entweder Inhibitoren und die Zuckerkonzentration verantwortlich gemacht, oder nur die Inhibitoren. Der Vertreter letzterer Meinung, PRICAMILAN, führt dazu aus: „Diese Wirkung wird nicht vom normalen Säuregehalt des Honigs, noch weniger durch die Zuckerkonzentration, sondern wahrscheinlich durch bakterizide Substanzen, die als Sekretionsprodukte der Bienen bzw. der Pflanzen aufgefaßt werden können, verursacht.“

Diesen Untersuchungen, die den Honig durch bestimmte Faktoren als keimfrei deuten, stehen Ergebnisse gegenüber, die dies in Frage stellen. So isolierte NUSSBAUMER aus schweizerischen und außereuropäischen Honigproben „2 Typen“ von Hefen, die er zu den Zygosaccharomyceten zählte. Obwohl die Proben in Gärung begriffen waren, bezweifelte er nicht, daß die darin gefundenen Hefen aus den Blüten stammten. LOCHHEAD wies in 198 Honiganalysen 128 zuckertolerante Hefen in Keimzahlen von 1—1 000 000/g nach. GRÜSS züchtete aus vier verschiedenen Honigsorten (von Obstbäumen, Robinien, Linden und Heide) jeweils „*Anthomyces reukaufii*“ syn. *Candida reukaufii* und betont, daß diese Hefe als Blütenbewohnerin von den Bienen mit dem Nektar in den Bienenstock getragen wird und deshalb auch im Honig anzutreffen sei. Auch RIPPEL-BALDES bejaht das Vorkommen von Hefen im Honig. Er führt für die Zygosaccharomyceten an, daß ihre Vertreter osmophil bzw. saccharophil sind, also einen sehr hohen Zuckergehalt lieben bzw. ertragen, bei ziemlich geringem Gärvermögen. Sie fänden sich deshalb im Honig.

Bei den eigenen Honiguntersuchungen wurden Proben aus dem Bestand eines ländlichen Imkers entnommen. Als Nährlösung wurde zur Ermittlungentwicklungsfähiger Hefen gewöhnliche Nährbouillon mit einem Zusatz von 10% Honig verwendet. 12 von 20 Honigproben der gleichen Honigsorte enthielten *T. stellata* (s. Tab. 2). Dieser Befund bestätigt die Ergebnisse von GRÜSS und NUSSBAUMER, daß bestimmte Hefen den Honigreifungsprozeß überstehen können, und der Honig auf diese Hefen nur eine bakterio-statische, nicht eine bakterizide Wirkung ausübt.

Zur Prüfung dieser Frage wurde *C. reukaufii* in 20 proz. und 50 proz. Honiglösung sowie in konzentrierten Honig eingimpft. Die Zellveränderungen und die Lebensfähigkeit dieser Hefeart wurden nach einmonatiger Bebrütung bei Zimmertemperatur nachgeprüft. Mit steigender Honigkonzentration und mit dem Absinken der pH-Werte trat eine Veränderung in der Morphologie der Hefezellen ein. In 20 proz. Honiglösung fanden sich vorwiegend Podialzellen und runde bis ovale Zellen mit großen Öltropfen. In 50 proz. Honiglösung zeigten sich hauptsächlich ovale Riesenzellen und tetradenförmig angeordnete Sproßverbände mit körniger Struktur. Im konzentrierten Honig waren geschrumpfte Zellen mit nur kleinen Öltropfen

Tab. 2. Vorkommen von Hefen.

Anzahl der Proben:	280	20	40	29	20	30
Proben mit Hefen:	142	16	36	10	12	26
Hefearten:	Bienen	Hummeln	Wespen	Blüten	Honige	Trauben
<i>C. guilliermondii</i> . .	24	4	—	1	—	—
<i>C. krusei</i>	23	—	—	—	—	5
<i>C. pulcherrima</i> . . .	41	4	16	4	—	11
<i>C. reukaufii</i>	1	1	—	1	—	—
<i>C. utilis</i>	2	—	—	—	—	—
<i>T. jamata</i>	19	6	—	2	—	—
<i>T. candida</i>	6	5	—	—	—	—
<i>T. stellata</i>	10	—	9	—	12	6
<i>T. gropengiesseri</i> . .	—	—	—	1	—	—
<i>T. bacillaris</i>	1	—	—	—	—	—
<i>T. dattila</i>	4	—	—	—	—	—
<i>T. sphaerica</i>	3	—	—	—	—	—
<i>Kl. apiculata</i>	13	2	6	1	—	7
<i>Kl. lafarii</i>	22	—	28	—	—	7
<i>Rh. mucilaginoso</i> . .	2	—	—	—	—	—
<i>Rh. glutinis</i>	2	—	—	—	—	—
<i>S. rouxii</i>	11	—	—	—	—	—
<i>S. rouxii</i> var. <i>pol.</i> .	1	—	—	—	—	—
<i>S. cerevisiae</i> var. <i>ell.</i>	7	—	—	—	—	—
<i>H. anomala</i>	7	—	—	—	—	—

Erklärung der Abkürzungen: siehe Tab. 1.

zu sehen, oder es traten dünne Zellen auf, die zu Sternen oder ähnlichen Gebilden vereinigt an ihren äußeren Enden kleinere Zellen hervorbrachten. Nach GRÜSS ist ein solches als Konidienform bezeichnetes Stadium eine vorübergehende Modifikation, die durch ungünstige Lebensbedingungen hervorgerufen wird. Aus diesem Versuch geht hervor, daß Hefen in derartig konzentrierten Honiglösungen lange Zeit am Leben zu bleiben vermögen.

C. Einfluß von Säuren auf das Hefewachstum.

Bienenhonig enthält unter anderem organische Säuren und zwar vorwiegend Milch- und Äpfelsäure, seltener Ameisensäure. Er reagiert deshalb sauer. Auch im Bienendarm treten als Stoffwechselprodukte der dort anzutreffenden Bakterien Milch- und Essigsäure auf. Dies gab Veranlassung zur Prüfung des Einflusses der verschiedenen Säuren auf die Entwicklungsfähigkeit der Hefen.

Zur Klärung dieser Frage wurden Röhrchen mit je 5 ccm einer 10 proz. Honigbouillonlösung und 0,1 ccm einer konzentrierten organischen oder anorganischen Säure beschickt. Die pH-Werte der verschiedenen Lösungen wurden mit Indikatorpapier Merck vor der Beimpfung ermittelt. Nach der Sterilisation wurden die Röhrchen mit je 0,1 ccm einer zu prüfenden Hefesuspension beimpft. Durch mikroskopische Untersuchung und durch Messung der pH-Werte der Nährlösungen, sowie durch Anlage von Subkulturen wurde das Verhalten der einzelnen Hefearten nach 3 und 10 Tagen Bebrütung bei 25° C kontrolliert.

Die Ergebnisse sind aus Tab. 3 ersichtlich.

Beim Vergleich des Hefewachstums in 10 proz. Honigbouillonlösung mit den verschiedenen Säuren ergab sich ein recht unterschiedliches Bild. In Honigbouillon ohne Säurezusatz (Ausgangs-pH 6,2) stellte sich bei leichtem Absinken des pH-Wertes Wachstum (×), gutes Wachstum (××) bis sehr gutes Wachstum (×××) für die einzelnen Hefearten ein. Bei Zusatz von

Tab. 3. Hefewachstum in 10 proz. Honigbouillonlösung mit Säurezusatz.

Säure:		Milchsäure	Essigsäure	Salzsäure	Kontrolle
Anfangs-pH-Wert		3,5	3,8	2	6,2
Hefen		pH Wachst.	pH Wachst.	pH Wachst.	pH Wachst.
<i>H. anomala</i>	3 Tg.	3,8 × × × ¹⁾	4 —	2,8 × ×	5,5 × × ×
	10 Tg.	3,8 × × ×	4 —	2,8 × ×	5,5 × × ×
<i>C. pulcherrima</i>	3 Tg.	3,8 ×	4 —	2,2 ×	5 ×
	10 Tg.	3,8 × × ×	4 —	2,2 × ×	5 × × ×
<i>C. krusei</i>	3 Tg.	3,8 × × ×	4 —	2,2 × × ×	5,8 × × ×
	10 Tg.	3,8 × × ×	4 × ×	2,2 × × ×	5,8 × × ×
<i>C. reukaufii</i>	3 Tg.	3,8 ×	4 —	2,5 —	5,5 ×
	10 Tg.	3,8 × ×	4 —	2,5 ×	5,5 × ×
<i>C. guilliermondii</i>	3 Tg.	3,8 ×	4 —	2,5 ×	5 ×
	10 Tg.	3,8 × × ×	4 —	2,5 × × ×	5 × × ×
<i>T. stellata</i>	3 Tg.	3,8 ×	4 —	2,4 —	5,8 ×
	10 Tg.	3,8 × ×	4 —	2,4 ×	5,8 × ×
<i>S. rouxii</i>	3 Tg.	3,8 ×	3,8 —	2,8 ×	6,2 —
	10 Tg.	3,8 × × ×	3,8 —	2,8 × ×	6,2 × ?

Erklärung der Abkürzungen: siehe Tab. 1.

¹⁾ Erklärung siehe im Text.

Milchsäure (Anfangs-pH 3,5) verlief das Wachstum, einhergehend mit einem leichten Anstieg des pH-Wertes auf 3,8, ähnlich wie bei den Kontrollen ohne Säurezusatz. Dagegen verhinderte Essigsäure, obwohl annähernd gleiche pH-Werte wie bei Milchsäurezusatz vorlagen, die Entwicklung der meisten Hefen. Nur *C. krusei* zeigte sich widerstandsfähig gegenüber dieser Säure. Auch Salzsäure erbrachte unterschiedliches Wachstum für die einzelnen Hefearten bei pH-Veränderungen von 2,0 bis 2,8. Kräftigstes Wachstum zeigte hier *C. krusei*; ihr folgten *C. guilliermondii*, *C. pulcherrima*, *H. anomala* und *S. rouxii*.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß von den organischen Säuren Milchsäure von allen geprüften Hefen am besten vertragen wird, Essigsäure dagegen nicht.

D. Bakteriengehalt bei Bienen (Flug- und Winterbienen).

Im Darmkanal der Bienen sind außer Hefen auch die verschiedensten Arten von Bakterien anzutreffen. Es galt deshalb auch das Vorkommen der Bakterien im Vergleich zu den Hefen bei Flug- und Winterbienen zu untersuchen. Dabei zeigte sich ganz allgemein, daß vor allem zwei Bakterien-

arten, nämlich *Aerobacter aerogenes* und *Escherichia coli*, durch ihre Häufigkeit gegenüber anderen Arten hervortraten. Deshalb fanden nur diese beiden Keimarten in der vorliegenden Arbeit Berücksichtigung.

Bei der Untersuchung der Bakterienflora von Flug- und Winterbienen haben sich sowohl regionale als auch jahreszeitliche Unterschiede für das Vorkommen ergeben. Die Flugbienen aus dem Englischen Garten in München wiesen eine ausgeprägte Bakterienflora im Mittel- und auch im Enddarm auf. *A. aerogenes* war in beiden Abschnitten achtmal gleichzeitig und zweimal nur im Mitteldarm anzutreffen. Zahlenmäßig trat *A. aerogenes* gegenüber *E. coli* in den einzelnen Darmabschnitten hervor. *E. coli* wurde nur bei acht der zehn untersuchten Flugbienen gefunden und zwar sechsmal in beiden Abschnitten gleichzeitig und zweimal nur im Mitteldarm.

Die Flugbienen des Zoologischen Instituts der Universität München wiesen seltener eine Bakterienflora in ihrem Darmtrakt auf. Fünf von 20 Bienen führten überhaupt keine dieser Bakterienarten. In acht Fällen lag sowohl im Mitteldarm als auch im Enddarm *A. aerogenes* vor. Nur im Enddarm war viermal und nur im Mitteldarm zweimal diese Bakterienart anzutreffen. Während *A. aerogenes* bei 14 der untersuchten Tiere festgestellt werden konnte, war *E. coli* nur bei acht von diesen zu finden. In einem Falle wurde es in beiden Abschnitten gleichzeitig ermittelt, während es in drei Fällen nur im Mitteldarm und in vier Fällen nur im Enddarm anzutreffen war. Bis auf eine Ausnahme kam es immer mit *A. aerogenes* gemeinsam im Darm vor. Ein Vergleich der Resultate von Flugbienen verschiedener Standorte läßt in *A. aerogenes* den Hauptbewohner der beiden Darmabschnitte erkennen. Nach zahlreichen früheren Untersuchungen gilt dieser als starker Antagonist gegenüber *E. coli*.

Führten die Flugbienen des Sommers in der Mehrzahl der Fälle eine Bakterienflora, so wiesen die Darmabschnitte von 15 eingewinterten Bienen nur zwei im Mitteldarm vereinzelt Bakterien, und zwar *A. aerogenes*, auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die Flugbienen führen eine z. T. ausgeprägte Bakterienflora. *A. aerogenes* gilt als Hauptbewohner des Bienendarms, während andere Bakterien als Passanten aufzufassen sind. Da den Winterbienen diese Bakterien fehlen, ist anzunehmen, sie seien nicht notwendig. Dagegen hat *A. aerogenes* bei Flugbienen vermutlich bestimmte biologische Aufgaben in der Erschließung der Nahrung zu erfüllen.

Besprechung der Ergebnisse.

Vergleichende Untersuchungen des Darmkanals von Bienen, Hummeln und Wespen und der von ihnen aufgesuchten Substrate auf Hefen ergaben in der Mehrzahl der Fälle die gleichen Hefearten. Aus dem Darminhalt von 142 hefeführenden Bienen ließen sich Hefen isolieren, die sechs Gattungen mit 19 Arten angehörten; davon konnten neun dieser Hefearten auch in Blüten, Honig und Trauben gefunden werden. Von den aus Hummeldärmen gezüchteten Hefen — drei Gattungen mit sechs Arten — erwiesen sich fünf Hefearten mit denen aus Blüten identisch. Aus dem Verdauungskanal von 36 hefeaufweisenden Wespen konnten vier Hefearten gezüchtet werden, die auf Trauben ebenfalls feststellbar waren. Die Beziehung der Hefevorkommen im Darm dieser Insekten zum Hefegehalt der aufgenommenen Substrate deutet darauf hin, daß die Hefen als Passanten anzusprechen sind. Durch die fehlende Sproßtätigkeit und der geringen Hefekeimzahl im Darm der

Flugbienen ist der Einfluß der Hefen zur Ergänzung des Fermentsystems — wenn überhaupt vorhanden — vermutlich sehr gering. Inwieweit die Hefen bei den Winterbienen durch ihren höheren Keimgehalt als Vitaminspender im Lebensabschnitt dieser Bienen eine biologische Bedeutung erlangen, wurde nicht näher untersucht. Diese damit zusammenhängende Frage der mikrobiellen Symbiose bei Bienen wird in der Literatur nicht bestätigt. Die Ansichten verschiedener Forscher über die Bedeutung der Hefen im Bienen Darm und ihrer Überwinterung wurden in den Ausführungen dargelegt. In diesem Zusammenhang schreibt auch MAURIZIO: „Vitamine sind für Bienen weder lebensverlängernd noch biologisch anregend. Es sei auch über das Vorhandensein von Symbionten bei Bienen, die Vitamine zu synthetisieren vermögen, nichts Näheres bekannt.“

Zusammenfassung.

1. Die Nektar saugenden Bienen, Hummeln und Wespen weisen in ihrem Verdauungstraktus oft Hefen auf. Das Auftreten dieser Pilze in den einzelnen Darmabschnitten ist jahreszeitlich verschieden.

2. Die aus Bienen isolierten Hefen gehörten sechs Gattungen mit 19 Arten an.

3. Die Untersuchung der Darmabschnitte (Mittel- und Enddarm) von 280 Flugbienen des Frühsommers und Sommers erbrachte in 142 Fällen einen positiven Hefebefund. In 63 dieser Fälle wies nur der Mitteldarm, in 23 nur der Enddarm Hefen auf. Bei 56 Bienen fanden sich Hefen in beiden Abschnitten.

4. Die Prüfung von zehn eingewinterten Bienen ergab in allen Fällen Hefen. Die Zusammensetzung dieser Hefeflora erwies sich gegenüber der der Flugbienen als sehr einheitlich.

5. Hinsichtlich der Bakterienflora (*Aerobacter aerogenes* und *Escherichia coli*) bestand zwischen Flug- und Winterbienen ein Unterschied; sie fehlte bei den Winterbienen.

6. Die auf Weintrauben abgefangenen Wespen zeigten oft Hefen. Diese gehörten drei Gattungen mit vier Arten an. Es überwog die Gattung *Klöckera* mit zwei Arten.

7. Die Untersuchungen von Hummeln ergaben Hefen, die sich drei Gattungen mit sechs Arten zuordnen ließen.

8. Aus dem Fruchtfleisch unbeschädigter Trauben konnten keine Hefen gezüchtet werden. Die Fruchtschale zeigte sich reich an Hefezellen. Sie gehörten drei Gattungen mit fünf Arten an.

9. 29 Blüten, von zwölf verschiedenen Pflanzenspezies stammend, wiesen in zehn Fällen Hefen (drei Gattungen mit sechs Arten) auf. Die Besiedlung war gering. Die Nektarhefe *Candida reukaufii* fand sich nur in einer Lindenblüte.

10. In zwölf von 20 Honigproben einer Sorte konnte nur eine Hefeart (*Torulopsis stellata*) ermittelt werden.

11. In Blüten und auf Traubenschalen fanden sich größtenteils die gleichen Hefen, die auch aus dem Darmkanal der genannten Insekten isoliert werden konnten.

12. Das unterschiedliche Vorkommen von Hefen bei Flugbienen (Frühjahr und Sommer) und die Verschiedenartigkeit der Zusammensetzung der Hefeflora im Darmkanal der Bienen läßt erkennen, daß die Hefen mit dem

Futter zufällig in den Darm gelangen. Wir können die Hefen bei diesen Insekten deshalb nur als Darmpassanten ohne jegliche Bedeutung ansprechen.

13. Im Mittel- und Enddarm kommen Hefen mit einer z. T. ausgeprägten Bakterienflora zusammen vor.

14. *A. aerogenes* erweist sich als starker Antagonist von *E. coli*. *A. aerogenes* kann als Hauptbewohner des Insektendarms angesehen werden, während *E. coli* als Passant aufzufassen ist.

15. Bei der Prüfung verschiedener Hefearten gegenüber organischen und anorganischen Säuren hat sich ergeben, daß die Mehrzahl der geprüften Hefearten die Anwesenheit von Milchsäure im Nährsubstrat vertragen, dagegen von Essigsäure nicht.

Die vorliegende Arbeit wurde am Tierhygienischen Institut der Universität München von 1953 bis 1955 durchgeführt. An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. M. ROLLE für die Überlassung des Themas und die erteilten Ratschläge herzlichst gedankt. Ferner schulde ich Herrn Prof. Dr. K. v. FRISCH großen Dank für das zur Verfügung gestellte Untersuchungsmaterial.

Schrifttum.

- BARTHEL, CHR., Zbl. Bakter. II **48**, 341 (1918). — BERLESE, AM., Zbl. Bakter. II **3**, 20 (1897). — BEUTLER, R., und SCHÖNTAG, A., Ztschr. vergl. Physiol. **28**, 254 (1940). — BOUTROUX, L., Ann. sci. nat., VI. bot. **17**, 144 (1884). — BUCHNER, P., Sitzgsber. Ges. Morph. u. Physiol. München (1911). — Ders., Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel-Stuttgart 1953. — BREFELD, O., Landw. Jahrb. **4**, 405 (1875). — DIDDENS, H. A., und LODDER, J., Beiträge zu einer Monographie der Hefearten. II. Teil. Die anaskosporogenen Hefen. 2. Hälfte. Amsterdam 1942. — v. FRISCH, K., Über den Geruchssinn der Biene und seine blütenbiologische Bedeutung. Jena 1919. — FRÖBRICH, G., Ztschr. vergl. Physiol. **27**, 483 (1946). — GRÜSS, J., Ber. dtsh. bot. Ges. **35**, 746 (1917). — Ders., Wschr. Brauerei **43**, 57 (1926). — Ders., Jahrb. wiss. Bot. **66**, 109 (1926). — HANSEN, E. CHR., Zbl. Bakter. II **12**, 259 (1904). — Ders., Zbl. Bakter. II **10**, 1 (1903). — HAUTMANN, FR., Arch. Protistenkunde **48**, 23 (1924). — HEDRICK, L. R., and BURKE, G. C., J. Bact. **59**, 481 (1950). — HILKENBACH, R., Nektarhefen. Diss. Kiel 1911. — HOFF, M., Arch. Mikrobiol. **14**, 661 (1950). — HUNKELER, M., Untersuchungen über die Darmbakterienflora der Honigbiene. Diss. Zürich 1926. — KLÖCKER, A., Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. Berlin u. Wien 1924. — KNOLL, L., Die Naturwiss. **2** (1913). — KOCH, A., Die Naturwiss. **14** u. **15** (1951). — Ders., Landw. Forsch. **6**, 70 (1954). — LOCHHEAD, A. G., Zbl. Bakter. II **88**, 296 (1938). — LODDER, J., Die Hefesammlung des Centraalbureau voor Schimmelkultures. II. Teil: Die anaskosporogenen Hefen. Amsterdam 1934. — LODDER, J., und KREGER-VAN-RIJ, N. J. W., The Yeasts, a Taxonomic Study. North Holland Publ. Co. Amsterdam 1952. — LUND, A., Studies on the Ecology of Yeasts. Munksgaard, Copenhagen 1954. — MAASSEN, A., Mitt. Biol. Reichsanst. Landw. u. Forsten. Heft: **2**, **4**, **7**, **8**, **11**, **12**, **14**—**18** (1906—1920). — MARCUS, O., Arch. Mikrobiol. **13**, 1 (1942). — MARPMANN, G., Ztschr. angew. Mikrosk. u. klin. Chemie **16**, 5 (1911). — MARTIN, H. H., Arch. Mikrobiol. **20**, 141 (1954). — MARVIN, G. E., J. Econ. Ind. **21**, 363 (1928). — MAURIZIO, A., Schweiz. Bienenztg. **6**, 273 (1954). — MEIER, K. E., und FREITAG, G., Ztschr. Hyg. **4**, 141 (1955). — MRAK, E. M., und McCLEUNG, L. S., J. Bact. **40**, 395 (1940). — MÜLLER, W., Arch. Mikrobiol. **5**, 84 (1934). — MÜLLER-THURGAU, H., Zbl. Bakter. II **14**, 296 (1905). — NADSON, G. A., und KRASSILNIKOV, N., Arch. Protistenkunde **6**, 165 (1927). — NIEHAUS, CH., Zbl. Bakter. II **87**, 97 (1932). — NIETHAMMER, A., Zbl. Bakter. II **88**, 208 (1933). — Ders., Arch. Mikrobiol. **13**, 45 (1942). — Ders., Technische Mycologie. Enke Verl., Stuttgart 1947. — NISSEN, W., Milchw. Forschg., **10**, 30 (1930). — NUSSBAUMER, TH., Ztschr. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel **20**, 272 (1910). — OFEHAUS, K., Ztschr. vergl. Physiol. **27**, 384 (1940). — PETERSEN, H., Arch. Physiol. **145** (1912). — PRICA-MILAN, H., Ztschr. Hyg. **120**, 437 (1938). — REES, M., Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870. — REUKAUF, E., Zbl. Bakter. II **34**, 258 (1912). — RIPPET-BALDES, A. K., Grundriß der Mikrobiologie. Berlin u. Göttingen 1952. — ROMWALTER, A., und KIRALY, A., Arch. Mikrobiol. **10**, 87 (1938). — SCHANDERL, H., Ztschr. Morph. u. Ökol., S. 530 (1942). — SCHIL-

LING, J., Zbl. Bakter. I **92** (1924) u. weit. — SCHÖLLHORN, K., Bull. Soc. Bot. Genève **11**, 154 (1919). — SCHUSTER, V., und ULEHLA, V., Ber. dtsh. bot. Ges. 1913. — STELLING-DEKKER, N. M., Die Hefesammlung des Centraalbureau voor Schimmelkultures. I. Teil: Die sporogenen Hefen. Amsterdam 1931. — STRUTZ, J., und KUNTZE, C., Die Naturwiss. **16**, 42 (1955). — WINKE, L., Zbl. Bakter. II **104**, 204 (1941). — WILSON, H. F., und MARVIN, G. E., J. Econ. Entomol. **22**, 513 (1929). — ZANDER, E., und GRÜSS, J., Studien zur Herkunftsbestimmung bei Bienenhonig. (Arten der Pilze in Honig.) Ehrenwirth Verl., München 1949. — ZINKERNAGEL, H., Zbl. Bakter. II **78**, 191 (1929).

Anschrift des Verfassers:

Dr. Josef Mooser, München 13, Neureutherstr. 35/IV.

Lebenslauf.

Ich, JOSEF MOOSER, wurde am 25. September 1920 zu Neuschwettingen, Krs. Neuburg/Donau, als Sohn des Land- und Gastwirts MICHAEL MOOSER und seiner Ehefrau MATHILDE geboren. Nach Abschluß der Volkshauptschule trat ich in die 3. Klasse der Höheren Lehranstalt in Regensburg ein. Am 25. September 1940 wurde ich aus der 8. Klasse der Oberrealschule Regensburg entlassen. Von 1940 bis 1945 diente ich bei der Wehrmacht. 1947 immatrikulierte ich an der Phil. und Theol. Hochschule in Regensburg. Nach Abschluß des fünften Semesters belegte ich die weiteren Semester an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München. 1951 legte ich das Staatsexamen in Biologie, Geographie und Physik (ohne Mathematik) mit Erfolg ab.

